中国黄粉蝶亚科六属间基于 COⅡ 和 EF-1α 基因部分序列的系统发育关系（鳞翅目：粉蝶科）

刘晓燕，吴孝兵*，诸立新

（安徽师范大学生命科学学院，重要生物资源保护与利用安徽省重点实验室，安徽芜湖 241000）

摘要：为了探讨中国黄粉蝶亚科属间的系统发育关系，我们对其中 6 属 9 种的细胞色素氧化酶Ⅱ（COⅡ）的部分序列和延伸因子基因（EF-1α）部分序列进行了分析。分别采用最大简约法（maximum parsimony，MP）、最大似然法（maximum likelihood，ML）和贝叶斯推论法（bayesian inference，BI）构建黄粉蝶亚科分子系统树。结果表明：在测得的 COⅡ基因的 648 bp 序列和 EF-1α 基因的 504 bp 序列中，有 261 个变异位点，151 个简约信息位点，黄粉蝶亚科内各属 COⅡ基因 A + T 含量（77.3%）均明显偏高。系统发育分析显示黄粉蝶属为亚科中较为原始的类群，分化较早，豆粉蝶属和迁粉蝶属亲缘关系较近，但钩粉蝶属与豆粉蝶属、迁粉蝶属之间的亲缘关系还不能确定。本研究结果和传统的基于形态学的黄粉蝶亚科的分类体系有所不同，最显著的分歧是本研究支持内群中分化最早的属应为黄粉蝶属，而不是豆粉蝶属和迁粉蝶属。

关键词：鳞翅目；黄粉蝶亚科；EF-1α 基因；COⅡ基因；系统发育

中图分类号：Q969　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：0454-6296(2007)06-0604-06

Phylogenetic relationship of six genera of the Coliadinae (Lepidoptera：Pieridae) in China based on partial sequences of EF-1α and COⅡ genes

LIU Xiao-Yan，WU Xiao-Bing*，ZHU Li-Xin (Anhui Provincial Key Laboratory of Conservation and Use of Important Biological Resources，College of Life Sciences，Anhui Normal University，Wuhu，Anhui 241000，China)

Abstract：The phylogenetic relationships among 9 species in 6 genera of butterflies belonging to the subfamily Coliadinae were explored based on the partial sequences of EF-1α (about 648 bp) and COⅡ (about 504 bp) genes. There were 261 variation sites and 151 parsimony-informative sites，and a 77.3% A + T bias in 1 152 bp nucleotides of the combined sequence of the EF-1α and COⅡ in the species examined. Molecular phylogenetic trees were constructed by using maximum parsimony (MP)，maximum likelihood (ML) and bayesian inference (BI) methods. The results suggested that *Eurema* was a primordial genus of Colidinae，which was differentiated earlier than other genera. According to the phylogenetic tree，*Colias* and *Catopsilia* were located in a sister group and had a close relationship. Whereas，*Gonepteryx* had an uncertain relationship with the sister group of *Colias* and *Catopsilia*. The inferred molecular phylogeny in the study did not support the traditional classification of Coliadinae based on morphology. Especially，this study supported the viewpoint that the earliest genus differentiated from ingroup was *Eurema*，but not the sister group of *Colias* and *Catopsilia*.

Key words：Lepidoptera；Colidinae；EF-1α gene；COⅡ gene；phylogeny

黄粉蝶亚科隶属于鳞翅目粉蝶科，全世界已知 18 属约 220 种（Braby，2005），我国已知 6 属 39 种（周尧，1998）。国内外已从分子、细胞染色体、酶学、形态学、繁殖、行为、生态等各个领域对该亚科进行了广泛

基金项目：安徽省优秀青年基金（04043049）；安徽省学术与技术带头人专项基金；安徽省高校生物环境与生态安全重点实验室基金

作者简介：刘晓燕，女，1982 年生，安徽合肥人，硕士研究生，从事昆虫分子系统学研究，E-mail：lxy3860694@yahoo.com.cn

* 通讯作者 Author for correspondence，E-mail：wuxb@mail.ahnu.edu.cn

收稿日期 Received：2006-11-12；接受日期 Accepted：2007-04-11

深入的研究（Ellers and Boggs，2004；Wang and Porter，2004），但其系统学研究方面尚存在争议。一般认为黄粉蝶亚科属于粉蝶科的一个亚科，早期形态学研究大多支持它与粉蝶亚科亲缘关系较近（Klots，1933；Ehrlich，1958）。在系统起源上，Venables（1993）认为黄粉蝶亚科为并系发生，而 Braby 等（2006）则认为是单系发生。关于黄粉蝶亚科内各属的系统发生关系也存在争议，Klots（1933）以外生殖器和翅脉等证据把黄粉蝶亚科分为 11 属，而对于 *Nathulis* 和 *Kricogonia* 2 属是否隶属于黄粉蝶亚科还不能确定。Braby（2005）则认为该亚科可分为 18 属。并在此基础上，用分子生物学方法证明 *Nathulis* 和 *Kricogonia* 均应归入黄粉蝶亚科（Braby *et al*.，2006）。

以往黄粉蝶亚科的系统学研究大部分都是基于形态学方面的证据，但该亚科内许多种具有迁徙行为，或者表现出季节性表型变异，或者由于栖息地变化而产生适应性进化，因此都会产生许多变型，导致形态学分类的不确定性（Braby *et al*.，2006；Chew，2006）。近年来，国内外学者广泛采用分子标记来研究系统发生关系，EF-1α（elongation factor-1α）基因是带有内含子的单拷贝基因（Normark，1999），一般其第一、二密码子高度保守，但第三密码子替换常常达到饱和，而鳞翅目大部分系统发生信息存在于第三密码子，因此 EF-1α 基因可以作为有用的分子标记来解决鳞翅目较近的分歧事件，特别是属和族的系统发生水平（Cho *et al*.，1995）。COⅡ基因（细胞色素氧化酶Ⅱ基因）是线粒体蛋白质编码基因，进化速率较快，是昆虫分子系统学研究中理想的分子标记，已被广泛应用于解决蝴蝶种、属、亚科间的关系（Caterino and Sperling，1999；诸立新等，2006）。鉴于联合分析会增加系统发生分析的置信度，基因联合分析被广泛运用于系统发生研究（Monteiro and Pierce，2001；Normark，2000）。

为了研究我国黄粉蝶亚科各属间的分子系统发生关系，本文测定了中国黄粉蝶亚科 6 属 9 种蝴蝶 EF-1α 和 COⅡ基因部分序列，结合从 GenBank 检索获得的中国黄粉蝶亚科蝴蝶同源序列，采用 EF-1α + COⅡ基因联合分析方法构建分子系统树，进行了系统发生分析。

1　材料与方法

1.1　材料

本研究选取了所有中国分布的黄粉蝶亚科 6 属 9 种，标本均由作者采集和收藏者提供，常温保存、常规方法干制而成。材料来源和采集时间见表 1。

表 1　样品来源

Table 1　Sources of samples and DNA data

种名 Species	编号 Code	采集地点 Collection location	采集时间 Collection date	GenBank 登录号 GenBank accession no.		参考文献 References
				COⅡ gene	EF-1α gene	
宽边黄粉蝶 *Eurema hecabe*	KB	安徽芜湖 Wuhu，Anhui	2006.07	EF068257	AY870587*	Braby *et al*.（2006）
斑缘豆粉蝶 *Colias erate*	BY	安徽滁州 Chuzhou，Anhui	2006.06	EF070613	EF070608	
黑角方粉蝶 *Dercas lycorias*	HJ	四川雅安 Ya'an，Sichuan	2005.06	EF068258	EF070609	
檀方粉蝶 *Dercas verhuelli*	TF	云南橄榄坝 Ganlanba，Yunnan	2005.09	EF068259	EF070611	
尖角黄粉蝶 *Eurema laeta*	JJ	安徽黄山 Huangshan，Anhui	2006.07	EF068260	EF070612	
钩粉蝶 *Gonepteryx rhamni*	GF	安徽黄山 Huangshan，Anhui	2005.07	EF068261	AY870568*	Braby *et al*.（2006）
梨花迁粉蝶 *Catopsilia pyranthe*	LH	云南橄榄坝 Ganlanba，Yunnan	2004.05	EF068263	EF070610	
迁粉蝶血斑型 *Catopsilia pomona*	QF	云南橄榄坝 Ganlanba，Yunnan	2004.05	EF068264	AY870569*	Braby *et al*.（2006）
玕黄粉蝶 *Gandaca harina*	GH	云南景洪 Jinghong，Yunnan	2005.09	EF068262	AY870514*	Braby *et al*.（2006）
碧凤蝶* *Papilio bianor**				AY457572*	AY457603*	Zakharov *et al*.（2004）

*：序列来自 GenBank. The sequences were downloaded from GenBank.

1.2 方法

1.2.1 总基因组的提取：从标本的同一侧取 2～3 只足，提取总 DNA。提取方法参照 Zimmermann 等（2000）的方法，取下的足用无菌双蒸水浸泡 48 h 以上，弃双蒸水。加入提取缓冲液（5 mmol/L Tris-HCl，25 mmol/L NaCl，pH 8.0，25 mmol/L EDTA，0.1% SDS），剪碎材料。加入 2 μL 的 20 mg/mL 蛋白酶 K，混匀，55℃消化过夜。经酚和氯仿抽提后，加入 2 倍体积的无水乙醇沉淀 DNA，DNA 沉淀经 70% 乙醇清洗，空气干燥后，溶于 30 μL 双蒸水，－20℃保存备用。实验过程中以无菌水作空白对照，并将其作为 PCR 阴性对照模板，以检测是否有外源 DNA 的污染。

1.2.2 PCR 扩增及产物检测：COⅡ基因扩增引物为针对鳞翅目设计的引物，引物序列为（EVA：5′-GAGACCATTACTTGCTTTCAGTCACT-3′；PATRICK：5′-CTAATATGGCAGATTATATGTATTGG-3′）（Caterino and Sperling，1999），可特异地扩增鳞翅目部分线粒体 DNA（mitochondrial DNA）的 COⅡ基因（约 650 bp）片段。EF-1α 基因的引物是通过参照 GenBank 公布的同一亚科内近缘种的同源保守序列设计的引物（EF-1α-F2：GAGAAGGAAGCCCAGGAAAT；EF-1α-R2：TCTTGGAGAGCTTCGTGGTG）（约 760 bp）可特异地扩增 EF-1α 基因部分序列，引物由上海生工生物技术服务有限公司合成。

反应体系总体积为 30 μL，其中含有 10 mmol/L Tris-HCl（pH 8.3），50 mmol/L KCl，1.5 mmol/L $MgCl_2$，0.001%明胶，100 μmol/L dNTPs，引物各 0.25 μmol/L，1 U Taq DNA 聚合酶，总 DNA 约为 30 ng。扩增 COⅡ基因的反应程序为：循环前 94℃预变性 1 min，94℃变性 1 min，45℃复性 1 min 30 s，72℃延伸 1 min 15 s，进行 6 个循环；然后再 94℃变性 1 min，51℃复性 1 min 30 s，72℃延伸 1 min 15 s，进行 36 个循环；循环结束 72℃延伸 5 min。扩增 EF-1α 基因的反应程序为：循环前 95℃预变性 2 min，95℃变性 1 min，55℃～51℃复性 1 min，72 ℃ 延伸 2 min，进行 32 个循环；循环结束 72℃延伸 5 min。PCR 产物用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳进行检测。在总 DNA 提取过程中所做的空白对照，其 PCR 扩增产物经 1.0% 的凝胶电泳检测，没有出现亮带，表明实验过程中未受到外源 DNA 分子的污染。

1.2.3 PCR 产物的切胶、纯化、测序：EF-1α 基因扩增得到的大部分 PCR 产物都存在非特异性扩增片段，经 2%低熔点的琼脂糖凝胶电泳切胶分离后，找出长约 760 bp 的 DNA 片段，用 DNA 凝胶回收试剂盒（TaKaRa 公司）回收纯化目的 DNA 片段，作为测序的模板送至上海生工测序。

1.3 实验数据的处理及系统发育重建

本研究测定了 9 个物种的 COⅡ基因部分序列和 5 个物种 EF-1α 基因部分序列，并从 GenBank 中获取了其余 4 个物种的 EF-1α 部分序列（表 1）。在 NCBI 网站上 Blast 程序进行同源性比较，找到其相近序列，确定其是否为相近的物种，再经人工校对以后，采用 ClustalX（1.8）软件（Thompson *et al*.，1997）对本研究所测得的序列和下载序列进行排序。基于 Kimura-2 参数，采用 Mega2.1（Kumar *et al*.，2001）计算不同序列间的碱基变异位点、简约信息位点、转换/颠换比率以及 A、T、G、C 的平均含量。以凤蝶亚科碧凤蝶 *Papilio bianor* 为外群，采用 PAUP4.0b10（Swofford，2002）最大简约法（maximum parsimony，MP）构建最简约树，构建 MP 树时分别在转换和颠换权重比 1∶1 和 12∶13 的权重下进行，通过启发式搜索的方法，将排序列引入的空位作为缺失数据，10 次重复随机加入序列，得到等权和加权两种 MP 树，Bootstrap 1 000 次检验各支的置信度，其中转换和颠换权重比 12∶13 来自于利用 MEGA3.1 软件基于 Tamura-Nei 模型对序列间的转换/颠换的计算；再用 PAUP4.0b10 建最大似然树（maximun likelihood，ML），采用 HKY85 模型标准设置，自检举 1 000 次重复检测；最后用 MrBayes3.0b4（Ronquist and Huelsenbeck，2003）软件进行 BI 分析，运行 4 个马尔可夫链，采用 Modeltest 3.06（Posada and Crandall，1998）软件选择最佳模型，最后选用 GTR＋I＋G 模型，以随机树为起始树，共运行 200 000 代，每 100 代抽样 1 次，重复 1 次。在舍弃老化样本后，根据剩余样本构建一致树，老化曲线显示在 50 000 代后已经达到饱和，建立合一树（bayesian tree）。

2 结果

2.1 序列分析

用 PAUP4.0b10 软件对 COⅡ基因和 EF-1α 基因间进行 PHT 检验（同质性检验，partition homogeneity test），结果显示基因进化水平不具有显著差异（$P = 0.22 > 0.01$），因而可以将两组数据整合在一起进行分析。采用 Mega2.1 软件，基于 Kimura-2 参数对 COⅡ基因和 EF-1α 基因部分序列的整合数据进行分析。统计两两序列间的碱基转换/颠换比值和遗传距离（表 2）。

表 2　黄粉蝶亚科 9 种蝴蝶 COⅡ + EF-1α 部分基因 Kimura-2 参数校正距离(下三角)和转换/颠换比值(上三角)

Table 2　Pairwise distance (below diagonal) and the numbers of nucleotide transitions/transversions (above diagonal) for mitochondrial COⅡ and EF-1α partial genes of 9 species of Coliadinae from China

	KB	JJ	LH	QF	GF	BY	HJ	TF	GH
KB		63/32	58/43	56/45	64/48	59/48	57/51	64/50	57/53
JJ	0.095		62/54	61/55	55/50	65/52	57/61	55/60	58/57
LH	0.101	0.116		1/3	34/25	34/32	41/43	39/42	42/43
QF	0.102	0.116	0.003		33/28	33/35	39/45	40/45	41/44
GF	0.112	0.106	0.059	0.061		43/34	53/37	57/38	49/37
BY	0.108	0.117	0.066	0.068	0.077		52/43	55/47	44/45
HJ	0.109	0.118	0.084	0.085	0.090	0.095		32/17	49/53
TF	0.114	0.115	0.081	0.085	0.095	0.103	0.049		55/56
GH	0.111	0.115	0.085	0.085	0.086	0.089	0.102	0.111	

在同源序列中，COⅡ基因部分序列中(约 648 bp)共有 166 个变异位点(占 25.7%)，96 个简约信息位点，A、T、G、C 碱基的平均含量为 42.0%、35.3%、12.3%、10.4%，转换/颠换为 27/37；在 EF-1α 基因部分序列中(约 504 bp)共有 95 个变异位点(占 18.8%)，55 个简约信息位点，A、T、G、C 碱基的平均含量为 24.2%、22.0%、26.2%、27.6%，转换/颠换为 24/11；不同物种整合数据分析结果表明，变异位点 22.6%，核苷酸替换以转换为主，转换/颠换(R)为 13/12。比较 3 组数据可见，COⅡ基因部分序列的 A + T 含量比率为 77.3%，表现出明显的 A + T 含量偏异，与典型昆虫线粒体 DNA 碱基组成一致(Simon *et al*.，1994)。整合数据集的转换/颠换(R) = 1.1 < 2，表明碱基替代已达饱和。遗传距离在内群之间最小是 0.3%，最大是 11.8%。内群所有序列的平均遗传距离为 9.2%。

为估计碱基替换的饱和程度，以遗传距离为横坐标，转换和颠换为纵坐标做散点图(图 1)。

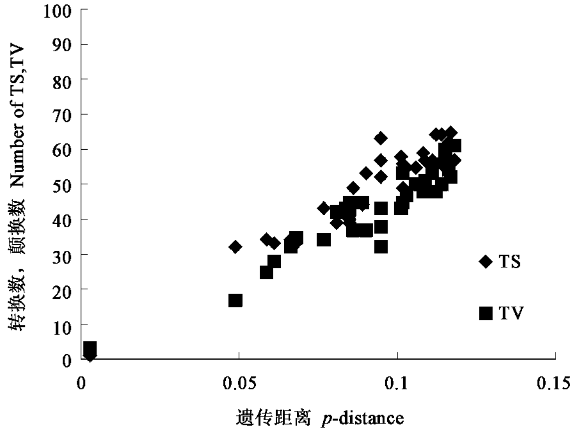

图 1　中国黄粉蝶亚科 9 种昆虫碱基替换饱和分析

Fig. 1　The substitution saturation analysis of mitochondrial COⅡ and EF-1α partial genes of 9 species of Coliadinae from China

TS：转换 Transition；TV：颠换 Transversion.

从图 1 中可以看出，随着遗传距离的增大，TV 增加的速度大于 TS 增加的速度，TS 逐渐趋于稳定，直到 p 为 0.12 左右，TV 和 TS 基本持平。再用 PAUP4.0b10 软件对数据做 PTPtest 序列信息检验，结果显示 p 为 0.01。以上均表明该数据具有较显著的系统发生信号(Kim andJansen，1998；Christopher and George，1999；Pollitt *et al*.，2005)，可以用于系统发育分析的研究。

2.2　分子系统树

本研究共构建了 3 种系统树：MP 树、ML 树、贝叶斯树(BI)。得到的分子系统树如图 2，3 种树显示的拓扑结构一致。Knight 和 Mindell(1993)认为如果转换颠换比的值小于 2.0，则此基因序列的突变已达到饱和状态，受进化噪音影响的可能性较大，重建系统发生时如不进行特别加权就会得出错误信息。本研究中序列数据组的转换颠换比(TS/TV)平均为 1.1，小于 2，需要特别加权。因此我们构建 MP 树时在等权和加权情况下，构建了两种 MP 树，两种 MP 树拓扑结构一致，只有置信度值略有不同，这里只列出等权 MP 树。我们得到的 MP 树的一致性指数(CI)为 0.6597，保留指数(RI)为 0.4813，重标指数(RC)为 0.3175。由图 2 可以看出，外群碧凤蝶与内群黄粉蝶亚科的 9 种蝴蝶明显分开，内群黄粉蝶亚科蝴蝶明显可以分为两大支，黄粉蝶属 2 个种(*Eurema hecabe*，*Eurema laeta*)聚成一支，内群其他 5 属聚成另一支，在这 5 属中各属同属种聚在一起。属间，玕黄粉蝶属与余下 4 属构成一姐妹群；在余下 4 属构成的分支簇中，方粉蝶属与另外 3 属构成一支；在另外 3 属中，迁粉蝶属又与豆粉蝶属聚在一起，然后再与钩粉蝶属聚在一起。

3　讨论

我国黄粉蝶亚科蝴蝶根据形态学差异可分为 6

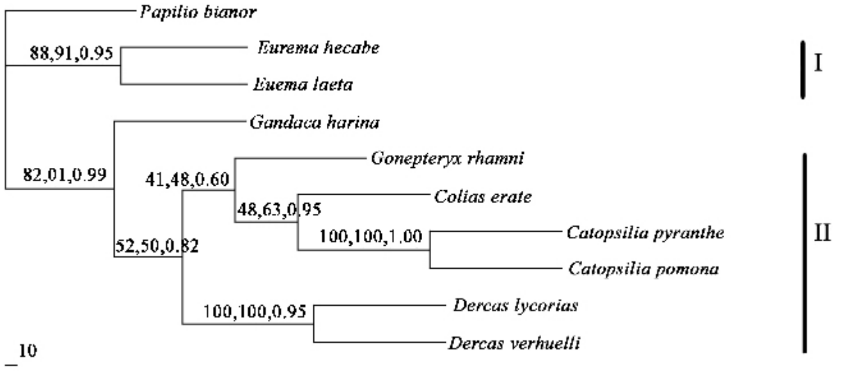

图 2 基于线粒体 COⅡ基因和核基因 EF-1α 基因部分序列联合构建的 MP 树

Fig. 2 MP tree based on combined data of COⅡ gene and EF-1α partial gene sequences

各分支上的三个数字分别为用 MP，ML 和 BI 法构建的系统发生树的置信度值。

The three numbers above each branch of the phylogenetic tree are the support values constructed by using MP, ML and BI methods respectively.

属（周尧，1998），其中根据后翅具有肩脉划分出方粉蝶属；根据后翅肩脉只存遗迹划分出迁粉蝶属；再根据前翅 R_{2+3} 脉与 R_5 脉同柄划分出豆粉蝶属；然后根据前翅顶角突出、翅边缘不呈黑色划分出钩粉蝶属；根据后翅 R_{2+3} 脉从近中室前角生出划分出黄粉蝶属；最后根据后翅 R_{2+3} 脉远从中室前角前生出划分出玕黄粉蝶属。

为了研究这 6 属的系统发生关系，本研究中采用 EF-1α 和 COⅡ部分基因联合分析的方法，构建 MP，ML 和 BI 系统树，得到一致的结果（图 2）。

根据本文构建的系统树，图 2 显示出黄粉蝶属单独构成一支，与内群其余 5 属分离，该属为中国黄粉蝶亚科内分化最早的属，与其他各属亲缘关系最远。除黄粉蝶属以外其余 5 属中，豆粉蝶属和迁粉蝶属聚为一支，表明 2 属亲缘关系较近，这 2 属再与钩粉蝶聚为一支，但自举检验值较低（< 50%）。Kimball 等（1999）指出，任何自举检验值小于 50% 的分支都应谨慎对待，因而据此原则，本文从分子系统树上尚不能确定钩粉蝶属与另外 2 属的亲缘关系。而后这 3 属与方粉蝶属又聚为一支，再与玕黄粉蝶属构成姐妹群关系，由此可见，方粉蝶属与这 3 属的亲缘关系较玕黄粉蝶属要近些。

我们将构建的分子系统关系与 Braby 等（2006）基于分子生物学方法构建的结果相比较，结论基本一致，都支持黄粉蝶属与其余各属亲缘关系最远。分歧在于 Braby 等（2006）认为钩粉蝶属与方粉蝶属构成姐妹群，亲缘关系很近，而与豆粉蝶属和迁粉蝶属亲缘关系远些，不过其自举检验值也较低（< 50%）。因此从分子系统发生角度尚不能确定钩粉蝶属与其余各属的亲缘关系。

我们再将本文构建的分子系统关系与 Klots（1933）基于形态学构建的结果相比较。Klots 认为豆粉蝶属与迁粉蝶属亲缘关系很近，二者构成姐妹群关系，这与本文结果一致。但他认为这 2 属从内群中分离出来，与其余 4 属关系最远，这与本文结论显然不同。其余 4 属又分化为两大支，其中黄粉蝶属与玕黄粉蝶属构成一支，并与其他 2 属亲缘关系也较近，这与本文结论不一致；钩粉蝶与方粉蝶构成另一支，这与 Braby 等（2006）构建的分子系统关系结论一致，与本文结果也不一致。综上可以看出，分子生物学的结果与 Klots（1933）的形态学结果主要分歧在于与内群各属亲缘关系最远的属。从形态学上看，Klots（1933）认为豆粉蝶属和迁粉蝶属在外形上与其余各属有明显差异，这 2 属的前翅顶角都较钝，而其余 4 属都较尖；豆粉蝶属不具有爪侧器和爪垫，而其余各属均具有爪侧器，且基本具有爪垫；在雄性外生殖器方面，豆粉蝶属和迁粉蝶属在第 9、10 体节的背兜后缘具有 1 个指状突起，囊突厚，而其余各属背兜不具指状突起，囊突长，不加厚；且这 2 属阳茎均呈弧形弯曲，基部有大的管状突起，具有长的基部分叉，而其余各属阳茎细长，不弯曲，且不具有基部分叉。其中方粉蝶属和钩粉蝶属阳茎顶端还具有几丁质的齿，表明此 2 属关系较近。而黄粉蝶属形态特征与除豆粉蝶属和迁粉蝶属以外其余各属没有显著分歧。

综上所述，本文支持黄粉蝶属与内群其余各属的亲缘关系最远，豆粉蝶属和迁粉蝶属与其余各属亲缘关系较近，这与 Klots（1933）的形态学结论相反，值得我们进一步研究。关于黄粉蝶亚科的系统发生关系目前仍然存在争议，而且专门的研究很少，需要结合生态、遗传、进化、生物地理学、化石证据等给出更为精确的结论。

参 考 文 献（References）

Braby MF，2005. Provisional checklist of genera of the Pieridae（Lepidoptera：Papilionidae）. *Zootaxa*，832：1 – 16.

Braby MF，Vila R，Pierce NE，2006. Molecular phylogeny and systematics of the Pieridae（Lepidoptera：Papilionoidea）：higher classification and biogeography. *Zool. J. Linn. Soc.*，147：239 – 275.

Caterino MS，Sperling FAH，1999. *Papilio* phylogeny based on mitochondrial cytochrome oxidase Ⅰ and Ⅱ genes. *Mol. Phylogenet. Evol.*，11：122 – 137.

Chew FS，2006. The green-veined white（*Pieris napi* L.），its Pierine relatives，and the systematics dilemmas of divergent character sets（Lepidoptera，Pieridae）. *Biol. J. Linn. Soc.*，88：413 – 435.

Cho S，Mitchell A，Regier JC，Mitter C，Poole RW，Friedlander TP，Zhao S，1995. A highly conserved nuclear gene for low-level phylogenetics：elongation factor-1α recovers morphology-based tree for heliothine moths. *Mol. Biol. Evol.*，12：650 – 656.

Chou I，1998. Classification and Identification of Chinese Butterflies. Zhengzhou：Henan Scientific and Technological Publishing House. 24 – 29.［**周尧**，1998. **中国蝴蝶分类与鉴定**. **郑州：河南科学技术出版社**. 24 – 29］

Christopher CA，George RZB，1999. Molecular and morphological evolution in the south-central Pacific skink *Emoia tongana*（Reptilia：Squamata）：uniformity and human-mediated dispersal. *Aust. J. Zool.*，47：425 – 437.

Ehrlich PR，1958. The comparative morphology，phylogeny and higher classification of the butterflies（Lepidoptera：Papilionoidea）. *Univ. Kansas Sci. Bull.*，39：305 – 364.

Ellers J，Boggs CL，2004. Evolutionary genetics of dorsal wing colour in *Colias* butterflies. *J. Evol. Biol.*，17：752 – 758.

Kim KJ，Jansen RK，1998. A chloroplast DNA phylogeny of lilacs（Syringa，Oleaceae）：plastome groups show a strong correlation with crossing groups. *Amer. J. Bot.*，85(9)：1 338 – 1 351.

Kimball RT，Braun EL，Zwartjes PW，1999. A molecular phylogeny of the pheasants and part-ridges suggests that these lineages are not monophyletic. *Mol. Phylogenet. Evol.*，11：38 – 54.

Kinght A，Mindell DP，1993. Substitution bias，weighting of DNA sequences evolution，and the phylogenetic positions of Fea's viper. *Syst. Biol.*，42(1)：18 – 31.

Klots AB，1933. A generic revision of the Pieridae（Lepidoptera）together with a study of the male genitalia. *Entomol. Am.*，12：139 – 242.

Kumar S，Tamura K，Jakobsen IB，Nei M，2001. MEGA2：Molecular evolutionary genetics analysis software. *Bioinformatics*，17(12)：1 244 – 1 245.

Monteiro A，Pierce NE，2001. Phylogeny of *Bicyclus*（Lepidoptera：Nymphalidae）inferred from COⅠ，COⅡ，and EF-1α gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.*，18：264 – 281.

Normark BB，1999. Evolution in a putatively ancient asexual aphid lineage：recombination and rapid karyotype change. *Evolution*，53(5)：1 458 – 1 469.

Normark BB，2000. Molecular systematics and evolution of the aphid family Lachnidae. *Mol. Phylogenet. Evol.*，14(1)：131 – 140.

Pollitt JR，Fortey RA，Wills MA，2005. Systematics of the trilobite families Lichidae Hawle & Corda，1847 and Lichakephalidae Tripp，1957：the application of bayesian inference to morphological data. *J. Syst. Pal.*，3(3)：225 – 241.

Posada D，Crandall KA，1998. MODELTEST：testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*，14：817 – 818.

Ronquist F，Huelsenbeck JP，2003. MrBayes3：Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*，19：1 572 – 1 574.

Simon C，Frati A，Beckenbach A，Crespi B，Liu H，Flook P，1994. Evolution，weighting，and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers. *Ann. Entomol. Soc. Am.*，87：651 – 701.

Swofford DL，2002. PAUP* Phylogenetic Analysis Using Parsimony（and Other Methods），Version 4.0b10. Sunderland，MA：Sinauer Associates.

Thompson JD，Gibson TJ，Plewniak F，Jeanmougin F，Higgins DG，1997. The ClustalX windows interface：flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.*，24：4 876 – 4 882.

Venables BAB，1993. Phylogeny of the white and sulphur butterflies（Pieridae）. Dissertation project proposal. Made available by Dr R. K. Robbins，National Museum of Natural History，Smithsonian Institution.

Wang BQ，Porter AH，2004. An AFLP-based interspecific linkage map of sympatric，hybridizing *Colias* butterflies. Genetics，168：215 – 225.

Zakharov EV，Caterino MS，Sperling FA，2004. Molecular phylogeny，historical biogeography，and divergence time estimates for swallowtail butterflies of the genus *Papilio*（Lepidoptera：Papilionidae）. *Syst. Biol.*，53(2)：193 – 215.

Zhu LX，Wu XB，Yan P，2006. Molecular phylogenetic relationships among four species of *Bhutanitis*（Lepidoptera，Papiliondae）based on partial COⅠ gene sequence. *Acta Zootaxonomica Sinica*，31(1)：25 – 30.［**诸立新，吴孝兵，晏鹏**，2006. **基于 COⅠ基因部分序列对尾凤蝶属（鳞翅目，凤蝶科）四种蝴蝶分子系统关系及相关问题的探讨**. **动物分类学报**，31(1)：25 – 30］

Zimmermann M，Wahlberg N，Descimon N，2000. Phylogeny of *Euphydryas* checkspot butterflies（Lepidoptera：Nymphalidae）based on mitochondrial DNA sequence data. *Ann. Entomol. Soc. Am.*，93：347 – 335.

（责任编辑：袁德成）